© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

Evolution und Stammesgeschichte der Eukaryoten

M. Schlegel & S. L. Schmidt

Abstract: The eukaryotic genome is a mosaic of archaea- und eubacteria-related genes. This lead to numerous hypotheses on the evolution of the eukaryotic cell, such as the Endokaryon-, Hydrogen-, "you are what you eat "-, the Phagotrophy- and the Chronocyte-Hypothesis. Besides the uptake of an alpha-proteobacterium, which developed into the mitochondrium, and of a cyanobacterium, which became the plastid, several fusions of plastid containing unicellular eukaryotes with heterotrophic protists occured. Nevertheless, an increasingly consistent picture of eukaryote phylogeny is emerging on the basis of morphological, biochemical, and molecular evidence. Five major lineages can be discerned: the Excavata, Rhizaria, "Unikonta", Chromalveolata, and Plantae. Two radically different scenarios are discussed with respect to the phylogenetic ramification of these groups. In multigene sequence comparisons using archaebacteria as out-group, excavates branch off first in the tree of eukaryotes. Alternatively, the „Unikonta" are regarded as the first branch since they lack an apomorphic gene fusion which is present in (almost) all other groups. Dissenting evidence from molecular data is highlighted and possible explanations are discussed.

Key words: Protists, molecular phylogeny, evolution, eukaryotic cell, intertaxonic recombination.

Einleitung

Viele spannende und zum guten Teil noch ungelöste Fragen der biologischen Evolution beschäftigen Wissenschaft und Öffentlichkeit gleichermaßen. Diese reichen von der Entstehung der ersten Stoffwechsel betreibenden und sich reproduzierenden Mikroorganismen bis hin zur Eroberung des Planeten Erde durch den modernen Menschen. Ein zentrales Problem ist die Entstehung der eukaryoten Zelle und ihre anschließende Diversifikation. Detaillierte biochemische und ultrastrukturelle Untersuchungen deckten eine ungeheuere Vielfalt eukaryotischer Einzeller oder Protisten und ihre Divergenz in verschiedene Evolutionslinien auf (Patterson 1999). Ihre exakte Abgrenzung und die Rekonstruktion ihrer Stammesgeschichte war jedoch mit diesen Merkmalen allein nur in beschränktem Umfang erfolgreich. Hilfe kommt in verstärktem Maß von den Trägern der Erbinformation selbst. Vergleichende Analysen von DNA-Sequenzen und Genstrukturen helfen zunehmend, plausible Hypothesen zur Evolution und Stammesgeschichte der Eukaryoten zu erarbeiten, ohne dass hierbei die Befunde anderer Merkmale an Wert verlieren. Im Gegenteil, in der Zusammenschau verschiedener Ansätze liegt oft der fruchtbarste Ansatz, ein evolutionsbiologisches Problem zu lösen, wie der folgende Abschnitt zeigen soll.

Evolution der eukaryoten Zelle

Unsere Vorstellungen über die Entstehung der eukaryotischen Zelle und die Natur der Stammart der Protisten sind noch sehr lückenhaft und noch immer Gegenstand heftiger Debatten. Gensequenzvergleiche zwischen Prokaryoten und Eukaryoten ergaben ein verwirrendes Bild. Viele untersuchte Gene der Protisten, wie z.B. der Elongationsfaktor 1-alpha, die ATPase oder ribosomale RNA, sind mit den Archäbakterien näher verwandt als mit den Eubakterien. Andere, beispielsweise sogenannte „Haushaltsgene" wie die Aldolase und die Superoxid-Dismutase, zeigen eine höhere Übereinstimmung zwischen Eukaryoten und Eubakterien (Lake & Rivera 1994, Smith et al. 1992, Doolittle 1998). Das Genom der Eukaryoten weist offensichtlich eine Mosaikstruktur auf (Horiike et al. 2001). Diese Befunde führten zu einer Reihe verschiedener Hypothesen zur Evolution der eukaryoten Zelle, von denen hier einige kurz vorgestellt werden sollen.

Die Endokaryon-Hypothese postuliert die Entstehung der Eukaryoten durch die Verschmelzung eines Gram-negativen Bakteriums (Wirt) und eines Archäbakteriums (Symbiont), welches zum Zellkern wurde. Ein Argument hierfür ist eine 23 Aminosäuren umfassende Insertion im hsp70-Hitzeschockprotein, die sowohl bei Gram-negativen Bakterien als auch bei Eukaryoten bekannt ist. Die chimäre Struktur des Eukaryotengenoms wurde ebenfalls durch eine solche Symbiose erklärt (Horiike et al. 2001).

Denisia **20**, zugleich Kataloge der oberösterreichischen Landesmuseen Neue Serie **66** (2007): 155–164

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

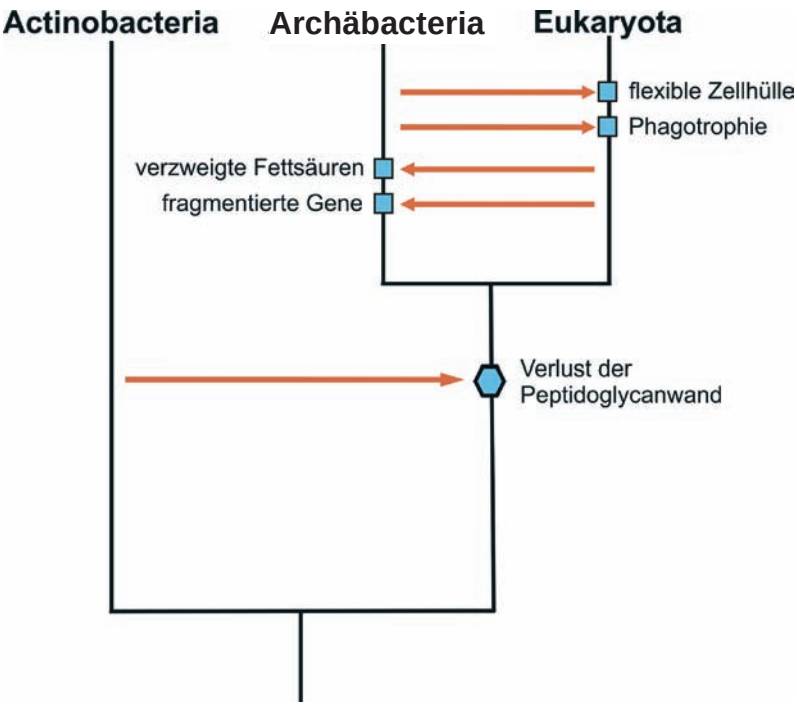

Abb. 1: Phagotrophie-Hypothese zur Evolution der Eukaryoten. Archäbakterien und Eukaryoten haben in ihrer gemeinsamen Stammlinie die Peptidoglycanwand verloren und entwickelten N-verbundene Glycoproteine („Neomura"). Verzweigte Fettsäuren und Fragmentierung der RNA-Polymerase und Glutamat Synthetase werden als abgeleitete Merkmale der Archäbakterien interpretiert, die Entwicklung einer flexiblen Zellhülle und der Phagotrophie dagegen als Apomorphien der Eukaryoten (nach SCHLEGEL & HÜLSMANN 2007).

In ähnlicher Weise geht die Hydrogen-Hypothese von einer Symbiose eines Wasserstoff-abhängigen, autotrophen, methanogenen Archäbakteriums (Wirt) mit einem heterotrophen, aeroben Eubakterium (Symbiont) aus, welches zum Mitochondrium evolvierte (MARTIN & MÜLLER 1998).

In der so genannten „du-bist-was-du-isst"-Hypothese postulierte DOOLITTLE (1998, 1999) eine Gemeinschaft primitiver Zellen in der frühen biologischen Evolution, zwischen denen es intensiven horizontalen Gentransfer gab. Dieser Gentransfer würde sich in die Richtung der Eukaryoten verstärkt haben, nachdem diese die Phagozytose erfunden hatten. Auch spielte lateraler Gentransfer nach Ansicht einiger Autoren eine wichtige Rolle in der frühen Evolution (WOESE 1998, 2002). So exisiterten nach WOESE in einer frühen Phase Nicht-Darwinistischer Evolution einfache Zellen, deren Komponenten verändert oder durch lateralen Transfer ausgetauscht werden konnten. In dieser Phase gab es noch keine stabile organismische Genealogie. Erst mit zunehmender Komplexität der Zellen wurde ein kritischer Punkt der zellulären Organisationshöhe und damit der zunehmenden Bedeutung der vertikalen Vererbung erreicht. Dieser Punkt des Beginns Darwinscher Evolution, als Darwinscher Schwellenwert (Darwinian Threshold) bezeichnet, würde auch den Beginn der Existenz von Spezies markieren.

Ein gänzlich anderes Szenario wurde in der Phagotrophie-Hypothese vorgestellt (CAVALIER-SMITH 2002, Abb. 1). Nach dieser bilden die Archäbakterien die Schwestergruppe der Eukaryoten. Als gemeinsame, abgeleitete Merkmale (Synapomorphien) werden der Verlust der Peptidoglycanwand und die Entstehung N-vernetzter Glycoproteine angeführt. CAVALIER-SMITH gab ihnen den Namen „Neomura", was soviel heißt wie „neue Wand". Die neuen Glycoproteine dienten den Archäbakterien als „Exoskelett". In Anpassung an die Hyperthermophilie wurden in der Linie zu den Archäbakterien Acylestherlipide durch Isoprenoidetherlipide ersetzt. Eine weitere Autapomorphie stellt die Fragmentierung der RNA–Polymerase und der Glutamat I-Gene dar (CAVALIER-SMITH 1987, 1998). Die Eukaryoten evolvierten hingegen eine flexible Oberfläche und die Fähigkeit zur Phagozytose mit anschließender Evolution von Cytoskelett, Endomembransystem, Kernhülle, Mitose, Meiose und Syngamie. Für diese Hypothese spricht die geringe Wahrscheinlichkeit der Fusion fragmentierter Gene bei den Eukaryoten, was man annehmen muss, wenn man die Endokaryon-Hypothese favorisiert. Eubakterielle Gene in Eukaryoten hingegen können als ursprüngliche, vom „neomuren" Vorfahren geerbte Merkmale interpretiert werden. Allerdings ist es schwierig sich vorzustellen, wie sich die Phagozytose evolviert haben könnte, bevor ein Cytoskelett exisitierte, welches für die Invaginationsvorgänge an der Zelloberfläche und zur Bildung von Nahrungsvakuolen notwendig ist.

Letztlich soll noch die Chronozyten-Hypothese (HARTMAN & FEDOROV 2002) vorgestellt werden (Abb. 2). Die Autoren identifizierten ca. 350 Eukaryoten-typische Proteine (eukaryote signatue proteins, ESPs) mit Hilfe von Genomvergleichen, die Vertreter der Eubakterien, der Archäbakterien und der Eukaryoten beinhalteten. Auch der Protist *Giardia lamblia*, von dem man annimmt, dass er früh in der Stammesgeschichte abgezweigt sei (siehe unten), wurde in diese Analysen einbezogen. Die ESPs haben ihre Funktionen im Cytoplasma und im Membransystem (Cytoskelett und Kalzium-Ionen-Kontrolle in der Signal-Transduktion), im Endoplasmatischen Reticulum sowie im Cyclin-Zyklus (ein Kontrollzyklus des Zellzyklus). Die Chronozyten-Hypothese besagt nun, dass zeitweise ein weiterer Zelltyp, die Chronozyte, exisitierte. Diese besaß ESPs, einen von einem Eubakterium abstammenden Zellkern und zusätzliche genetische Information von Archäbakterien. Diese Chronozyte war der Vorläufer der Eukaryoten, aber auch ein Überbleibsel der so genannten RNA-Welt mit RNA als Speicher der Erbinformation. Der Kern der Chronozyte, ein Abkömmling eines Eubakteriums, nutzte hin-

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

gegen DNA als Informationsspeicher. Damit liefert diese Hypothese zumindest eine sinnfällige Erklärung für die eukaryotische Trennung nukleärer Transkription und cytoplasmatischer Translation.

Primäre, sekundäre und tertiäre Zellfusionen komplizieren die Stammesgeschichte der Eukaryoten

Egal wie das Mitochondrium entstand, ob durch ein Fusionsereignis oder durch Endocytobiose kurz nach der Evolution der eukaryoten Zelle, der nächstverwandte lebende Vertreter wurde mit Hilfe molekulargenetischer Vergleiche als alpha-Proteobakterium identifiziert (LANG et al. 1999). Der weiter anhaltende laterale Gentransfer im Laufe der Evolution der Eukaryoten erschwert jedoch die Rekonstruktion der Stammesgeschichte der Protisten. Dies gilt insbesondere für die autotrophen Organismen. Es ist insbesondere aufgrund molekularer Analysen weitgehend akzeptiert, dass Plastiden ebenso wie die Mitochondrien im Verlauf der

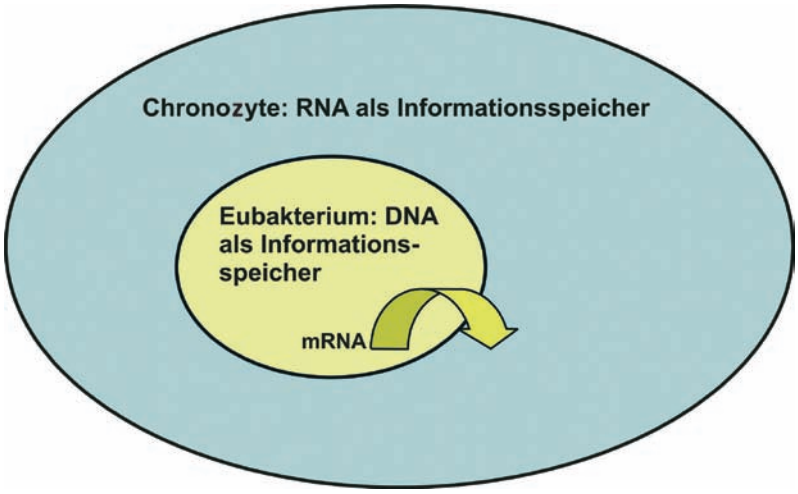

Abb. 2: Chronozyten-Hypothese zur Evolution der Eukaryoten. Die Chronozyte war ein zeitweilig exisitierender Zelltyp mit RNA als Informationsträger. Der Kern entwickelte sich von einem Eubakterium mit DNA als Informationsspeicher (nach SCHLEGEL & HÜLSMANN 2007).

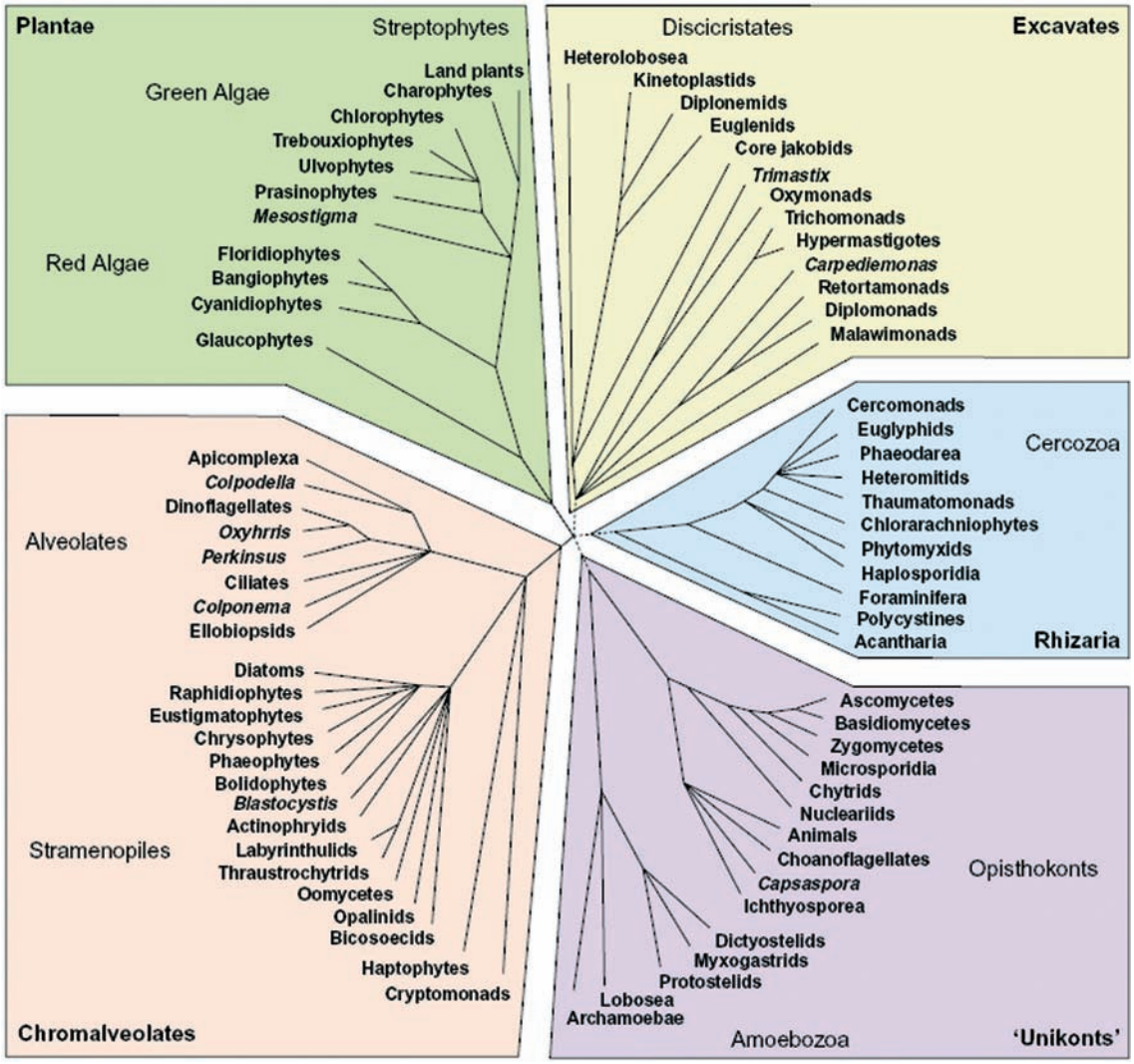

Abb. 3: Stammbaum der Eukaryoten. Dieser Stammbaum wurde anhand morphologischer, biochemischer und molekularer Merkmale erstellt (aus KEELING et al. 2005).

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

Evolution nur einmal entstanden. Diese Stammlinie spaltete sich dann in die Linien der heutigen Glaucocystophyten, Rotalgen, Grünalgen und Landpflanzen auf (DELWICHE 1999, KEELING 2004). Die Aufnahme eines Cyanobakteriums, das nachfolgend zum Plastiden wurde, nannte Peter SITTE eine „primäre intertaxonische Rekombination" (SITTE 1991). Darüber hinaus kam es in der Protistenevolution mehrfach zu so genannten sekundären intertaxonischen Rekombinationen. Einzellige Grünalgen wurden von Vertretern der Eugleniden, Dinoflagellaten und Cercozoen „domestiziert". Einzellige Rotalgen fanden Aufnahme in Cryptomonaden, heterokonten Algen, Haptomonaden, Dinoflagellaten und Apikomplexen. Sogar tertiäre Rekombinationen fanden statt, indem Haptomonaden von Dinoflagellaten domestiziert wurden (DELWICHE 1999).

Dennoch erscheint die Lage nicht ganz aussichtslos, phylogenetische Muster in der Evolution der Protisten rekonstruieren zu können. Vor allem der Vergleich von Multigen-Sequenzen sowie von Genstrukturen ergibt ein überschaubares Bild der Ereignisse solcher intertaxonischer Rekombinationen. So wird zum Beispiel das Konzept der Chromalveolata (CAVALIER-SMITH 2004a) durch Multigen-Sequenzvergleiche (BALDAUF et al. 2000, HARPER et al. 2005) unterstützt. Dies reduziert die Zahl notwendig anzunehmender sekundärer Rekombinationen erheblich. Das „Supertaxon" Chromalveolata umfasst die heterokonten Algen, Cryptomonaden und Haptomonaden (Chromista sensu CAVALIER-SMITH) sowie die Alveolata mit den Dinoflagellata, Apikomplexa, Ciliophora und zwei kleineren Taxa, den Perkinsozoa und Haplosporidia. Es ist mittlerweile bekannt, dass die rein parasitischen Vertreter der Apikomplexa (zu denen u.a. auch die Erreger der Malaria gehören) einen Rest eines Plastiden aufweisen. Das Konzept der Chromalveolaten sagt jedoch auch voraus, dass Ciliaten ebenfalls Plastiden gehabt haben müssen, obwohl man in diesen, sehr intensiv untersuchten Protisten bislang keine Hinweise dafür gefunden hat. Daher wäre es sicher eine spannende Aufgabe, nach (genetischen) Resten eines Plastiden bei Vertretern der Ciliophora zu forschen.

Intertaxonische Rekombinationen wären somit in der Protistenevolution relativ selten. Hingegen gibt es zahlreiche rezente Beispiele für das Vorkommen endosymbiotischer Algen in heterotrophen Protisten, wie *Cyanophora paradoxa* oder *Paramecium bursaria*. Daher bleibt die Frage, warum bei relativer Häufigkeit rezenter Symbiosen zwischen autotrophen einzelligen Algen und heterotrophen Protisten die (fast) vollständige Reduktion des Symbionten zum Plastiden ein anscheinend doch relativ seltenes evolutionäres Ereignis darstellt. Eine teilweise Begründung lässt sich sicher in der Schwierigkeit der Orchestrierung der, durch die intertaxonischen Rekombinationen rasch ansteigenden Zahl der Genome und ihrer Expressionskontrolle finden. So sind in einer heterotrophen Eukaryotenzelle zwei Genome (Kern- und mitochondriales Genom) enthalten, in einem autrotrophen Eukaryoten sind es sogar drei. Dadurch werden bei einer sekundären intertaxonischen Rekombination bereits fünf verschiedene Genome in einer einzelnen Zelle vereinigt. Im Falle einer tertiären Verbindung zwischen einer Haptomonade und einem Dinoflagellaten sind es bereits zehn! Wie stark auf eine koordinierte Genexpression selektiert wird, zeigt die Anhäufung sowohl mitochondrialer als auch plastidärer Gene im Zellkern (MARTIN et al. 2002).

Als Fazit lässt sich festhalten, dass wir derzeit keinen Grund zur Annahme haben, dass die Frequenz von lateralem Gentransfer (einschließlich intertaxonischer Rekombinationen) die grundlegenden Prozesse der Aufspaltung in der Eukaryotenphylogenie zur Unkenntlichkeit hin auslöscht (KEELING et al. 2005).

Ordnung mit Hilfe der vergleichenden Analyse der Erbsubstanz – der „molekulare" Stammbaum

In der ersten Phase der Rekonstruktion von Stammbäumen mit Hilfe molekularer Marker wurden Einzelgene, vorwiegend die kodierende Region der kleinen ribosomalen RNA (small subunit ribosomal RNA, ssu rRNA), miteinander verglichen. Diese ergaben erstmals ein umfassendes Bild eines Eukaryoten-Stammbaumes. Er war gegliedert u.a. in einen basalen Teil, an dem mitochondrienlose Taxa, wie die Mikrosporidier, Parabasalier und Diplomonaden abzweigten und eine so genannte „Krone", in der sich mehr oder weniger buschartig viele zum Teil neu erkannte Gruppen aufspalteten. Als Beispiel seien hier die nahe Verwandtschaft der Pilze und der vielzelligen Tiere, die wie vermutet, mit den Choanoflagellaten gruppierten, oder aber die Gruppierung der Dinoflagellaten, Apikomplexa und Ciliaten genannt. Auch die nähere Verwandtschaft euglyphider Amöben, Sarcomonaden, Chlorarachniophyten und der parasitischen Phytomyxeen wurde mit Hilfe von Sequenzvergleichen der ssu rRNA erkannt. Etliche der Verwandtschaftshypothesen hielten jedoch späteren Überprüfungen mit verbesserten Stammbaumrekonstruktionsmethoden und weiteren molekularen Markern nicht stand (PHILIPPE et al. 2000, BALDAUF & DOOLITTLE 1997, KEELING & DOOLITTLE 1996). So erwiesen sich die amitochondriaten, basal abzweigenden Taxa als sekundär mitochondrienlos, da mitochondriale, proteinkodierende Gene in deren Kernen gefunden wurden (EMBLEY & HIRT 1998, BUI et al. 1996). Die Mikrosporidier erwiesen sich aufgrund von Sequenzanalysen proteinkodierender Gene als hoch abgeleitete Pilze (KEE-

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

LING 2003) und waren im rRNA-Stammbaum völlig verkehrt platziert (EDLUND et al. 1996, Übersicht in KEELING & FAST 2002).

Allerdings erwiesen sich Vergleiche einzelner proteinkodierender Gene keineswegs a priori informativer oder verlässlicher in der Stammbaumrekonstruktion. Der phylogenetische Informationsgehalt von Aktin-, Tubulin- und Elongationsfaktor 1-alpha-Genen scheint zumindest in einigen Evolutionslinien durch multiple Substitutionen reduziert bis verloren zu sein (PHILIPPE & ADOUTTE 1998, ROGER et al. 1999). So lässt sich mit Sequenzanalysen des Elongationsfaktors 1-alpha noch nicht einmal die Monophylie der Ciliaten bestätigen (MOREIRA et al. 1999).

Derzeit befinden wir uns in einer Periode des Wiederaufbaus des Eukaryoten-Stammbaumes. Besondere Fortschritte wurden hierbei durch den simultanen Vergleich möglichst vieler Gensequenzen und diskreter molekularer Strukturen, wie konservierte Insertionen oder Deletionen, Genfusionen oder Brüche, Intronpositionen und Austausche von Genen erzielt (Übersicht in KEELING et al. 2005, SCHLEGEL 2003).

Gegenwärtig werden fünf große Evolutionslinien oder „Supertaxa" (KEELING et al. 2005, BURKI & PAWLOWSKI 2006) diskutiert (Abb. 3 aus KEELING et al. 2005). Eine etwas abweichende Nomenklatur findet sich bei CAVALIER-SMITH (2004b).

Die Excavata stellen eine sehr diverse Gruppe von Protisten dar, die viele anaerobe und parasitische Spezies enthält. In diesem Taxon werden u.a. die Diplomonadea, Retortamonada, Parabasalea, Oxymonada, Jacobida, Kinetoplastida und die Heterolobosea (Amoeboflagellaten) vereint. Zurzeit gibt es kein alle Excavata vereinendes Merkmal im Sinne einer Autapomorphie. Insgesamt sprechen jedoch Übereinstimmungen in der Cytoskelett-Ultrastruktur und molekulare Daten für ein Taxon Excavata (SIMPSON 2003, SIMPSON & PATTERSON 2001, SIMPSON et al. 2002). Insbesondere Diplomonadea und Parabasalea wurden früher als primär mitochondrienlose Eukaryoten aufgefasst, die sich im Stammbaum vor der Entstehung der Mitochondrien abgespaltet hatten. Mit Ausnahme von Oxymonaden und Retortamonaden wurden jedoch mittlerweile mitochondrielle Gene und sogar Reste von Mitochondrien in allen Taxa gefunden (BUI et al. 1996, ROGER et al. 1998, TOVAR et al. 2003). Ob die Excavata dennoch die früheste Eukaryotenlinie darstellen (KEELING & PALMER 2000) bleibt abzuwarten, da neuere Hypothesen (STECHMANN & CAVALIER-SMITH 2002) eher dagegen sprechen.

Rhizaria sind die jüngst abgegrenzte „Supergruppe". Für sie gibt es bislang, allerdings in zunehmendem Umfang, nur Unterstützung von molekularen Daten. Die Foraminifera und die Cercozoa stellen wesentliche Taxa dar, wobei es sich bei den Cercozoa (CAVALIER-SMITH 1998) um einen Teil der früheren „Amöben" handelt (andere Teile finden sich in den Heterolobosea bei den Excavata und als Amöbozoa bei den Ophisthokonta wieder). Die Cercozoa umfassen die filosen Schalenamöben, die Chlorarachniophyta und die pflanzenparasitischen Plasmidiophorea (BHATTACHARYA et al. 1995, WYLEZICH et al. 2002). Unterstützt werden die Rhizaria durch Aktin-, RNA-Polymerase II- und ribosomale Gensequenzvergleiche (KEELING 2001, LONGET et al. 2003, CAVALIER-SMITH 2003, NIKOLAEV et al. 2004) sowie durch einen Multigen-Sequenzvergleich von 85 proteinkodierenden Genen (BURKI & PAWLOWSKI 2006). Als abgeleitetes Merkmal im Sinne einer Synapomorphie kann die besondere Struktur des Ubiquitin-Genes gewertet werden. Gewöhnlich sind Ubiquitin-Gene als „Kopf-an-Schwanz"-Wiederholungen organisiert. Der polycistronische Messenger wird posttranslational in Monomere zerschnitten. Cercozoa und Foraminifera weichen von dieser kanonischen Ubiquitinstruktur ab, indem sie gerade an der „Kopf-Schwanz-Schnittstelle" eine zusätzliche Aminosäure aufweisen. Dies deutet darauf hin, dass hier die Prozessierung des Ubiquitins gänzlich anders funktionieren muss als bei anderen Eukaryoten (ARCHIBALD et al. 2003).

Zwei jeweils gut unterstützte Taxa, die Opisthokonta und Amöbozoa werden als „Unikonte" zusammengefasst. Dieser Begriff ist jedoch problematisch, da diese zwar nur eine Geißel, aber zwei Basalkörper aufweisen, also nicht primär unikont sein können. Hinweise für eine nähere Verwandtschaft dieser beiden Taxa kommen bislang von Multigen-Sequenzvergleichen (BALDAUF et al. 2000, BAPTESTE et al. 2002, PHILIPPE et al. 2004, STEENKAMP et al. 2006, BURKI & PAWLOWSKI 2006). Die Amöbozoa enthalten die Mehrzahl amöboider Formen (nackte und beschalte lobose Amöben, nackte filose Amöben sowie die ehemals als ursprünglich betrachteten Mastigamöben) sowie zelluläre und azelluläre Schleimpilze. Für die Monophylie der Amöbozoa spricht neben den Sequenzvergleichen auch eine Fusion der mitochondrialen COX I- und COX II-Gene zu einem gemeinsamen offenen Leseraster, das für ein zusammenhängendes COX I-COX II-Protein kodieren könnte. Die Opisthokonta umfassen die Metazoa und ihre einzelligen Verwandten, die Ichthyosporea und Choanoflagellata, die „höheren Pilze" oder Fungi (Chytridiomyceten, Mikrosporidier, Zygomyceten, Ascomyceten und Basidiomyceten). Auch hier sprechen neben zahlreichen Sequenzvergleichen strukturelle Daten für die Monophylie der Opisthokonta. Zum einen sind dies Insertionen im Elongationsfaktor 1-alpha und im Enolase-Gen, einem Enzym des Glykolyse-Stoffwechselweges. Zum anderen besitzen sie eine abwei-

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

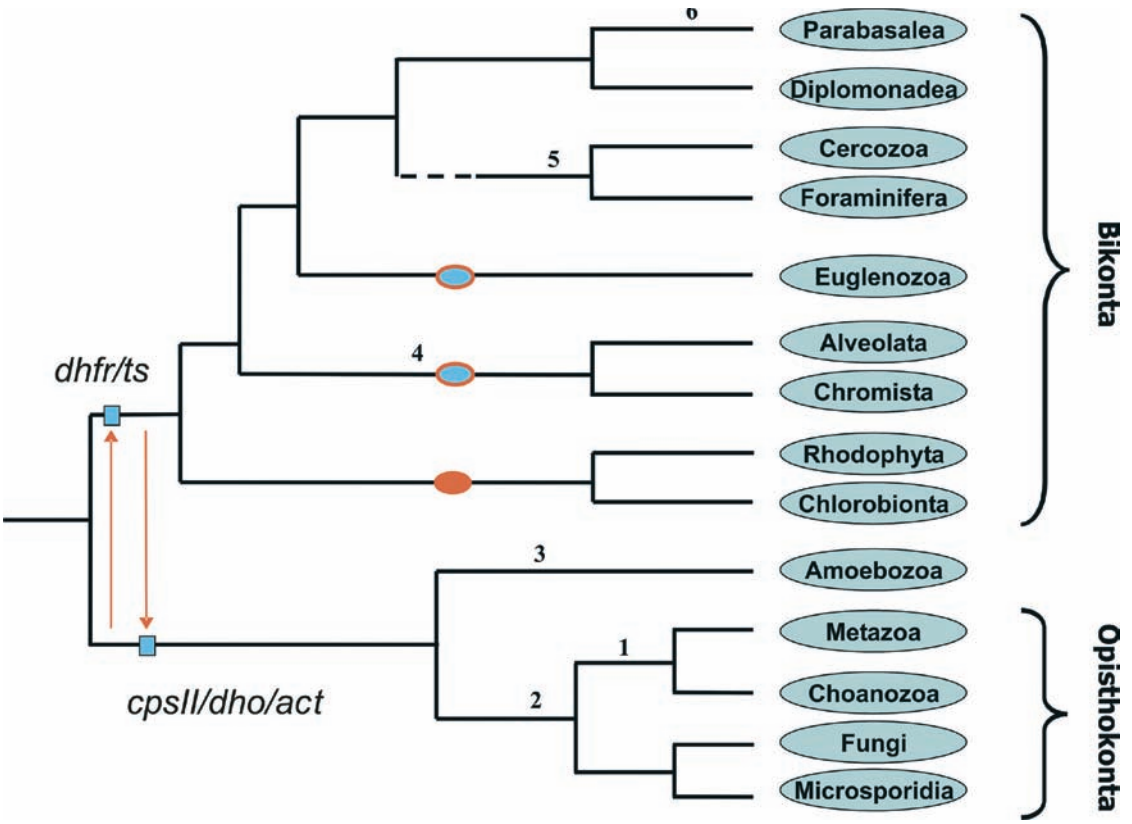

Abb. 4: Phylogenetischer Stammbaum erstellt mit einem Multigen-Datensatz (BALDAUF et al. 2000, BAPTESTE et al. 2002). Die Wurzel wurde mit Hilfe zweier Genfusionen in den Stammbaum gelegt (STECHMANN & CAVALIER SMITH 2002, 2003). *dhfr/ts*: Dihydrofolat-Reduktase/Thymidylat-Synthase. *cpsII/dho/act*: Carbamoyl-Phosphat-SynthaseII/Dihydroorotase/Aspartat-Carboamyl-Transferase. Die Zahlen symbolisieren evolutionäre Ereignisse, die als abgeleitete Merkmale interpretiert werden: (1) Fusion des Epidermalen Wachstumsfaktor-Gens mit der Tyrosin-Kinase zu einer Rezeptor-Tyrosin Kinase: (2) 12-17 Aminosäuren-Insertion im Elongationsfaktor 1-alpha Gen; (3) Fusion der COX I und COX II Gene; (4) Duplikation und Transfer in den Plastiden des nukleären Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase-Gens; (5): Serin und/oder Alanin-Insertion in der funktionell wichtigen Monomer-Monomer-Verknüpfung des Ubiquitin-Gens; (6): Deletion von zwei Aminosäuren im Enolase-Gen. Orangefarbene Ellipse: einmalige Aufnahme eines Cyanobakteriums und Entwicklung zum Plastiden. Umrandete Ellipsen: Fusion eines plastidenhaltigen Eukaryoten mit einem heterotrophen Protisten.

chende, womöglich durch lateralen Genstranfer von einem Archäbakterium in ihre Stammlinie eingeführte Tyrosyl-tRNA-Synthetase (HUANG et al. 2005). Für eine Schwestergruppenbeziehung zwischen den Metazoen und den Choanoflagellaten spricht weiterhin die Rezeptor-Tyrosin-Kinase. Es handelt sich hierbei um den ersten, außerhalb der Metazoen gefundenen Enzymkomplex mit zahlreichen membranständigen Domänen, was darauf hindeutet, dass Choanoflagellaten ähnliche Signaltransduktionswege wie vielzellige Tiere benutzen könnten (KING & CARROLL 2001). Allerdings gibt es auch Autoren, die die Monophylie der Opisthokonta infragestellen (PHILIP et al. 2005).

Die Chromalveolaten umfassen die bereits angeführten und gut begründeten Alveolata (FAST et al. 2001) und die Chromista (die Heterokonten, Phäophyceen, Diatomeen, Coccolithophoren sowie Haptophyceen und Cryptomonaden). Als Autapomorphie wurden zunächst ihre sekundären, von einer Rotalge stammenden Plastiden angeführt (CAVALIER-SMITH 1998). Analysen plastidärer Gene unterstützen die Monophylie der Chromista (YOON et al. 2002, 2004) während eine Analyse von 14 Genen, die für Proteine des Photosystems kodieren, lediglich die Cryptomonaden zu den Heterokonten stellt (HAGOPIAN et al. 2004). Somit erscheinen die Chromista in ihrer Monophylie noch nicht gesichert, was auch ein Vergleich von sechs kernkodierten Genen ergab (HARPER et al. 2005). Auch hier wurde die Monophylie der Chromalveolata unterstützt, die Chromista jedoch eher schwach, d.h. die Stellung der Haptomonaden und Cryptomonaden war aus den Daten nicht überzeugend abzuleiten. Weitere Evidenz für die Chromalveolata kommt von strukturellen Daten. Zwei kernkodierte Proteine, die Glyceraldehyd-3-Phospat-Dehydrogenase (GAPDH) und die Fructose-1,6-Bisphosphat-Aldolase (FBA) scheinen in der Evolution dupliziert worden zu sein, wobei jeweils eines der Paralogen die ursprüngliche plastidäre Kopie ersetzt hat.

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

Dies sind seltene evolutionäre Ereignisse. Zudem sind diese, in die Plastiden exportierten Proteine in ihrer Sequenz näher miteinander verwandt als mit irgend welchen anderen Homologen und werden deshalb als Autapomorphien der Chromalveolata interpretiert (FAST et al. 2002, PATRON et al. 2004).

Die fünfte „Supergruppe" umfasst die Plantae, die durch primäre Plastiden charakterisiert sind. Obwohl einige Ungereimtheiten über die Aufspaltung der Glaucophyten, Rotalgen und Grünalgen plus Landpflanzen (deren Schwestergruppenbeziehung als gesichert gelten darf) bestehen, gewinnen wir zunehmend ein Bild der Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb dieser Gruppe und eine zunehmende Unterstützung für ihre Monophylie. Zahlreiche Multigen-Sequenzvergleiche plastidärer und kernkodierter Gene unterstützen diese Hypothese (TURNER et al. 1999, MOREIRA et al. 2000, RODRIGUÉZ-EZPELETA et al. 2005). Auch vergleichende Analysen mitochondrialer Genome unterstützen eine Gruppierung von Rotalgen mit Grünalgen und Landpflanzen. Derzeit wird dieses Taxon durch die molekularen und ultrastrukturellen Daten wohl von allen fünf „Supertaxa" am besten unterstützt.

Wo liegt die Wurzel des Stammbaumes?

Im Hinblick auf die mögliche Abfolge der Aufzweigungen der vorgestellten Großgruppen und der Position der Stammlinie werden zwei Szenarien diskutiert, die sich grundlegend voneinander unterscheiden. Eine ausführliche Analyse verschiedener Hypothesen wurde von ARISUE et al. (2005) veröffentlicht, in der jedoch leider die Rhizaria nicht enthalten sind. Legt man die Wurzel an den Eukaryoten-Stammbaum mit Hilfe eines Vergleichs der Archäbakterien als Außengruppenvertreter, zweigen die Excavata als erste Linie im Stammbaum ab (KEELING & PALMER 2000, BAPTESTE et al. 2002). Es wurde jedoch argumentiert, dass diese frühe Abspaltung ein durch hohe Substitutionsraten bedingtes Artefakt sein könnte (BAPTESTE et al. 2002). Alternativ wurde eine Aufzweigung vorgeschlagen, die zwischen den eingeißligen Unikonten und allen anderen, zweigeißligen Taxa (Bikonta) liegt (STECHMANN & CAVALIER-SMITH 2002, 2003). Als Apomorphie für letztere wird eine Fusion des Dihydroxyfolat-Oxidase-Gens (*dhfr*) mit dem Thymidylat-Synthase-Gen (*ts*) gewertet. Für die Unikonten wird eine Fusion von Genen, die in der Pyrimidinsynthese involviert sind, als Argument angeführt. Es handelt sich hierbei um die Carboamyl-Phosphat-Synthase, die Dihydroorotase und die Aspartat-Carboamyl-Transferase. Allerdings wird gerade diese Apomorphie jüngst in Zweifel gezogen, da diese Genfusion auch bei einem Vertreter der Bikonten, nämlich einer Rotalge gefunden wurde (MATSUZAKI et al. 2004). Es fehlen derzeit umfassende Datensätze, um diese Fusionen in ihrer Bedeutung als Autapomorphien richtig beurteilen zu können. So muss angenommen werden, dass die *dhfr/ts*-Fusion in den Parasiten der Diplomonadea und Parabasalea verloren ging. Denn weder in *Giardia intestinalis* und *Trichomonas vaginalis* noch in *Tritrichomonas foetus* wurden entsprechende Enzymaktivitäten nachgewiesen. Auch wurde in der Genomanalyse von *Giardia lamblia* kein verwandtes Gen gefunden. Der Nachweis der Genfusion vor allem bei freilebenden Vertretern der Excavata wird notwendig sein, um das späte Abzweigen im Eukaryoten-Stammbaum glaubhaft zu machen. Dennoch scheint die frühe Abzweigung der Unikonten und somit eine viel spätere Entstehung der Excavata derzeit favorisiert zu werden. Eine hieraus abgeleitete Stammbaumhypothese der fünf Großgruppen (Abb. 4), wie sie bereits 2003 postuliert wurde (SCHLEGEL 2003, SCHLEGEL & HÜLSMANN 2007), deckt sich weitgehend mit den jüngsten Analysen eines auf 85 Proteingenen basierenden Sequenzvergleichs (BURKI & PAWLOWSKI 2006).

Widersprüche in den Datensätzen

Derzeit diskutierte Hypothesen zur Evolution und Phylogenie der Eukaryoten und die hierfür angeführten Daten wurden hier zusammengefasst. In vielen Fällen mehrt sich die Zahl der Argumente für ein Taxon. Es gibt jedoch auch Beobachtungen, die diesen widersprechen. Sogar eine der am besten unterstützten Gruppen, die Opisthokonta, wurde durch neue Analysen infragegestellt (PHILIP et al. 2005). In der Tat gibt es für fast jede der Großgruppen auch Argumente für alternative Hypothesen. Dies sollte aber nicht zu dem Schluss führen, dass sie alle falsch seien. Zunächst muss zwischen den Daten unterschieden werden, die eine Hypothese nicht stützen (negative Evidenz) und solchen, die eine alternative Hypothese stützen (positive Evidenz). Oft hilft eine detaillierte Analyse des Datensatzes weiter. Bei Multigen-Sequenzvergleichen führt die Entfernung schnell evolvierender Gene aus dem Datensatz zur Auflösung von Widersprüchen (HAGOPIAN et al. 2004). So wurde die Monophylie der Chromalveolaten aufgrund eines Vergleichs von 42 plastidären Sequenzen infragegestellt, weil jeweils ein Vertreter der Diatomeen und Cryptomonaden mit einer Rotalge gruppierten (MARTIN et al. 2002). In einer Reanalyse, in der schnell evolvierende Gene (meist ribosomale Proteine) aus dem Datensatz entfernt wurden, gruppierten die Chromalveolaten wieder zusammen. Darüber hinaus ließ sich durch entsprechende Topologie-Tests (HKY-Tests) in Maximum-Likelihood-Analysen nachweisen, dass eine Trennung der Chromalveolaten im kompletten Datensatz nicht signifikant besser war als eine (im Berechnungsverfahren der Stammbaumrekonstruktion mögliche) Vereinigung der Chromalveolaten-Sequenzen. Hingegen war im Datensatz ohne die schnell evolvierenden Sequenzen die Mo-

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

nophylie der Chromalveolaten signifikant wahrscheinlicher als ihre Trennung (HAGOPIAN et al. 2004).

Mit der Zeit werden die Datensätze vollständiger werden, sowohl im Hinblick auf noch fehlende Taxa, wie z. B. die Heliozoen (NIKOLAEV et al. 2004) als auch durch die zunehmende Zahl der Bestimmung kompletter Genome. Damit werden sich auch die phylogenetisch (mit Vorsicht!) interpretierbaren strukturellen Daten, nach denen nicht systematisch wie nach Gensequenzen gesucht werden kann, erhöhen. Auch werden sich analytische Methoden ebenso wie unser theoretisches und empirisches Verständnis mit Hilfe der Methoden der Bioinformatik, insbesondere der Modellierung von Prozessen der Sequenz-, Gen- und Genomevolution verbessern. Dennoch werden wir auch in Zukunft nicht ausschließen können, dass unterschiedliche Datensätze zu unterschiedlichen Stammbaumhypothesen führen. Ein Grund hierfür liegt in dem bereits zu Beginn angeführten lateralen Gentransfer. Zum anderen verlief die Stammesgeschichte mitnichten immer unserem phylogenetischen Ordnungssinn folgend nur in Bifurkationen. Zahlreiche Beispiele für retikuläre Evolution gibt es genug. Dennoch, solche Ereignisse können die Rekonstruktion der Stammesgeschichte nicht nur komplizieren, sondern, wenn sie richtig erkannt werden, auch bei deren Aufklärung hilfreich sein.

Zusammenfassung

Die Eukaryoten weisen in ihrem Genom ein Mosaik aus Archä- und Eubakterien verwandten Genen auf. Dies führte zu zahlreichen Hypothesen zur Evolution der eukaryoten Zelle, wie der Endokaryon-, Hydrogen-, „du-bist-was-du- isst"-, der Phagotrophie- und der Chronozyten-Hypothese. Neben der Aufnahme eines alpha-Proteobakteriums, das sich zum Mitochondrium entwickelte und eines Cyanobakteriums, das zum Plastiden wurde, kam es im Lauf der Eukaryotenevolution zu mehreren Verschmelzungen bereits plastidenhaltiger Einzeller mit heterotrophen einzelligen Eukaryoten. Dennoch entsteht mit Hilfe morphologischer, biochemischer und molekularer Merkmale ein zunehmend konsistentes Bild der Eukaryotenphylogenie in dem sich fünf Großgruppen erkennen lassen, die Excavata, Rhizaria, "Unikonta", Chromalveolata und Plantae. Über die Aufspaltungsabfolge in der Eukaryotenphylogenie werden zwei sehr unterschiedliche Szenarien diskutiert. In Multigen-Sequenzvergleichen mit Archäbakterien als Außengruppenvertreter zweigen die Excavata als erste im Stammbaum ab. Alternativ werden als erste Abspaltung die „Unikonta" betrachtet, da ihnen eine, in (fast) allen anderen Gruppen entdeckte und als abgeleitetes Merkmal gewertete, Genfusion fehlt. Widersprüche in den molekularen Datensätzen werden aufgezeigt und mögliche Ursachen hierfür werden diskutiert.

Literatur

ARISUE N., HASEGAWA M. & T. HASHIMOTO (2005): Root of the Eukaryota tree as inferred from combined maximum likelihood analyses of multiple molecular sequence data. — Mol. Biol. Evol. **22** (3): 409-420.

ARCHIBALD J.M., LONGET D., PAWLOWSKI J. & P.J. KEELING (2003): A novel polyubiquitin structure in Cercozoa and Foraminifera: evidence for a new eukaryotic supergroup. — Mol. Biol. Evol. **20** (1): 62-66.

BALDAUF S.L. & W.F. DOOLITTLE (1997): Origin and evolution of the slime molds (Mycetozoa). — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **94** (22): 12007-12012.

BALDAUF S.L., ROGER A.J., WENK-SIEFERT I. & W.F. DOOLITTLE (2000): A kingdom-level phylogeny of eukaryotes based on combined protein data. — Science **290** (5493): 972-977.

BAPTESTE E., BRINKMANN H., LEE J.A., MOORE D.V., SENSEN C.W., GORDEN P., DURUFLÉ L, GAASTERLAND T., LOPEZ P., MÜLLER M. & H. PHILIPPE (2002): The analysis of 100 genes support the grouping of highly divergent amoebae: *Dictyostelium*, *Entamoeba*, and *Mastigamoeba*. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **99** (3): 1414-1419.

BHATTACHARYA D., HELMCHEN T. & M. MELKONIAN (1995): Molecular evolutionary analysis of nuclear-encoded small subunit ribosomal RNA identify an independent rhizopod lineage containing the Euglyphina and the Chlorarachniophyta. — J. Eukaryot. Microbiol. **42** (1): 65-69.

BUI E.T., BRADLEY P.J. & P.J. JOHANNSON (1996): A common evolutionary origin for mitochondria and hydrogenosomes. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **93** (18): 9651-9656.

BURKI F. & J. PAWLOWSKI (2006): Monophyly of Rhizaria and multigene phylogeny of unicellular bikonts. — Mol. Biol. Evol. **23** (10): 1922-1930.

CAVALIER-SMITH T. (1987): The origin of eukaryotic and archaebacterial cells. — Ann. NY Acad. Sci. **503**: 17-54.

CAVALIER-SMITH T. (1998): A revised six-kingdom system of life. — Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. **73** (3): 203-266.

CAVALIER-SMITH T. (2002): The phagotrophic origin of eukaryotes and phylogenetic classification of Protozoa. — Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **52** (Pt 2): 297-354.

CAVALIER-SMITH T. (2003): Protist phylogeny and the high-level classification of Protozoa. — Europ. J. Protistol. **39** (4): 338-348.

CAVALIER-SMITH T. (2004a): Chromalveolate diversity and cell megaevolution: interplay of membranes, genomes and cytoskeleton. — In: HIRT E.P. & D.S. HORNER (Eds): Organelles, genomes and eukaryote phylogeny: an evolutionary synthesis in the age of genomics. CRC Press Boca Raton: 75-108.

CAVALIER-SMITH T. (2004b): Only six kingdoms of life. — Proc. Biol. Sci. **271**(1545): 1251-1262.

DELWICHE C.F. (1999): Tracing the thread of plastid diversity through the tapestry of life. —Am. Nat. **154** (S4): 164-177.

DOOLITTLE W.F. (1998): You are what you eat: a gene transfer ratchet could account for bacterial genes in eukaryotic nuclear genomes. — Trends Genet. **14** (8): 307-311.

DOOLITTLE W.F. (1999): Rethinking the origin of eukaryotes. — Biol. Bull. **196** (3): 378-380.

EDLUND T.D., LI J., VISVESVARA G.S., VODKIN M.H., MCLAUGHLIN G.L. & S.K. KATIYAR (1996): Phylogenetic analysis of beta-tubulin sequences from amitochondrial protozoa. — Mol. Phyl. Evol. **5** (2): 359-367.

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

EMBLEY T.M. & R.P. HIRT (1998): Early branching eukaryotes? — Curr. Opin. Genet. Dev. **8** (6): 624-629.

FAST N.M., KISSINGER J.C., ROOS D.S. & P.J. KEELING (2001): Nuclear-encoded, plastid-targeted genes suggest a single common origin for apicomplexan and dinoflagellate plastids. — Mol. Biol. Evol. **18** (3): 418-426.

HAGOPIAN J.C., REIS M., KITAJIMA J.P., BHATTACHARYA D. & M.C. DE OLIVEIRA (2004): Comparative analysis of the complete plastid genome sequence of the red alga *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* provides insights into the evolution of rhodoplasts and their relationship to other plastids. — J. Mol. Evol. **59** (4): 464-477.

HARPER J.T., WAANDERS E. & P.J. KEELING (2005): On the monophyly of chromalveolates using a six-protein phylogeny of eukaryotes. — Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **55** (Pt 1): 487-496.

HARTMAN H. & A. FEDOROV (2002): The origin of the eukaryotic cell: a genomic investigation. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **99** (3): 1420-1425.

HORIIKE T., HAMADA K., KANAYA S. & T. SHINOZAWA (2001): Origin of eukaryotic cell nuclei by symbiosis of Archaea in Bacteria is revealed by homology-hit analysis. — Nat. Cell Biol. **3** (2): 210-214.

HUANG J., XU Y. & J.P. GOGARTEN (2005): The presence of a haloarchaeal type tyrosyl-tRNA synthetase marks the ophisthokonts as monophyletic. — Mol. Biol. Evol. **22** (11): 2142-2146.

KEELING P.J. (2001): Foraminifera and Cercozoa are related in actin phylogeny: two orphans find a home? — Mol. Biol. Evol. **18** (8): 1551-1557.

KEELING P.J. (2003): Congruent evidence from alpha-tubulin and beta-tubulin gene phylogenies for a zygomycete origin of Microsporidia. — Fungal Genet. Biol. **38** (3): 298-309.

KEELING P.J. (2004): A brief history of plastids and their hosts. — Protist **155** (1): 3-7.

KEELING P.J. & W.F. DOOLITTLE (1996): Alpha-tubulin from early-diverging lineages and the evolution of the tubulin family. — Mol. Biol. Evol. **13** (10): 1297-1305.

KEELING P.J. & J.D. PALMER (2000): Parabasalian flagellates are ancient eukaryotes. — Nature **405** (6787): 635-637.

KEELING P.J. & N.M. FAST (2002): Microsporidia: biology and evolution of highly reduced intracellular parasites. — Ann. Rev. Microbiol. **56**: 93-116.

KEELING P.J., BURGER G., DURNFORD D.G., LANG B.F., LEE, R.W., PEARLMAN R.E., ROGER A.J. & M.W. GRAY (2005): The tree of eukaryotes. — Trends Ecol. Evol. **20** (12): 670-676.

KING N. & S.B. CARROLL (2001): A receptor tyrosine kinase from choanoflagellates: molecular insights into early animal evolution. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **98** (26): 15032-15037.

LANG B.F., SEIF E., GRAY M.W., O'KELLY C.J. & G. BURGER (1999): A comparative genomics approach to the evolution of eukaryotes and their mitochondria. — J. Eukaryot. Microbiol. **46** (4): 320-326.

LAKE J.A. & M.C. RIVERA (1994): Was the nucleus the first endosymbiont? — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **91** (8): 2880-2881.

LONGET D., ARCHIBALD J.M., KEELING P.J. & J. PAWLOWSKI (2003): Foraminifera and Cercozoa share a common origin according to RNA polymerase II phylogenies. — Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **53** (Pt 6): 1735-1739.

MARTIN W. & M. MÜLLER (1998): The hydrogen hypothesis for the first eukaryote. — Nature **392** (6671): 37-41.

MARTIN W., RUJAN T., RICHLY E., HANSEN A., CORNELSEN S., LINS T., LEISTER D., STOEBE B., HASEGAWA M. & D. PENNY (2002): Evolutionary analysis of *Arabidopsis*, cyanobacterial, and chloroplast genomes reveals plastid phylogeny and thousands of cyanobacterial genes in the nucleus. — Proc. Natl. Acad. Sci. **99** (19): 12246-12251.

MATSUZAKI M., MISUMI O., SHIN-I T. et al. (42 Autoren) (2004): Genome sequence of the ultrasmall unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* 10D. — Nature **428** (6983): 653-657.

MOREIRA D., LE GUYADER H. & H. PHILIPPE (1999): Unusually high evolutionary rate of elongation factor 1 alpha genes from the Ciliophora and its impact on the phylogeny of eukaryotes. — Mol. Biol. Evol. **16** (2): 234-245.

MOREIRA D., LE GUYADER H. & H. PHILIPPE (2000): The origin of red algae and the evolution of chloroplasts. — Nature **405** (6782): 69-72.

NIKOLAEV S.I., BERNEY C., FAHRNI J.F., BOLIVAR I., POLET S., MYLNIKOV A.P., ALESHIN V.V., PETROV N.B. & J. PAWLOWSKI (2004): The twilight of Heliozoa and rise of Rhizaria, an emerging supergroup of amoeboid eukaryotes. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **101** (21): 8066-8071.

PATTERSON D.J. (1999): The diversity of eukaryotes. — Am. Nat. **154** (S4): 96-124.

PATRON N.J., ROGERS M.B. & P.J. KEELING (2004): Gene replacement of fructose-1,6-bisphosphate aldolase supports the hypothesis of a single photosynthetic ancestor of chromalveolates. — Eukaryot. Cell **3** (5): 1169-1175.

PHILIP G.K., CREEVEY C.J. & J.O. MCINERNEY (2005): The Opisthokonta and the Ecdysozoa may not be clades: stronger support for the grouping of plant and animal than for animal and fungi and stronger support for the Coelomata than Ecdysozoa. — Mol. Biol. Evol. **22** (5): 1175-1184

PHILIPPE H. & A. ADOUTTE (1998): The molecular phylogeny of Eukaryota: solid facts and uncertainties. — In: VICKERMAN K., SLEIGH M. & M. WARREN (Eds): Evolutionary relationships among Protozoa. Chapman & Hall, London: 25-56.

PHILIPPE H., GERMOT A. & D. MOREIRA (2000): The new phylogeny of eukaryotes. — Curr. Opin. Genet. Dev. **10** (6): 596-601.

PHILIPPE H., SNELL E.A., BAPTESTE E., LOPEZ P., HOLLAND P.W. & D. CASANE (2004): Phylogenomics of eukaryotes: impact of missing data on large alignments. — Mol. Biol. Evol. **21** (9): 1740-1752.

ROGER A.J., SVÄRD S.G., TOVAR J., CLARK C.G., SMITH M.W., GILLIN F.D. & M.L. SOGIN (1998): A mitochondrial-like chaperonin 60 gene in *Giardia lamblia*: evidence that diplomonads once harbored an endosymbiont related to the progenitor of mitochondria. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **95** (1): 229-234.

ROGER A.J., SANDBLOM O., DOOLITTLE W.F. & H. PHILIPPE (1999): An evaluation of elongation factor1 alpha as a phylogenetic marker for eukaryotes. — Mol. Biol. Evol. **16** (2): 218-233.

RODRIGUÉZ-EZPELETA N., BRINKMANN H., BUREY S.C., ROURE B., BURGER G., LOFFELHARDT W., BOHNERT H.J., PHILIPPE H. & B.F. LANG (2005): Monophyly of primary photosynthetic eukaryotes: green plants, red algae and glaucophytes. — Curr. Biol. **15** (14): 1325-1330.

SCHLEGEL M. (2003): Phylogeny of Eukaryotes recovered with molecular data: highlights and pitfalls. — Europ. J. Protistol. **39** (2): 113-122.

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

SCHLEGEL M. & N. HÜLSMANN (2007): Protists – A textbook example for a paraphyletic taxon. — ODE, im Druck.

SIMPSON A.G. (2003): Cytoskeletal organization, phylogenetic affinities and systematics in the contentious taxon Excavata (Eukaryota). — Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **53** (Pt 6): 1759-1777.

SIMPSON A.G. & D.J. PATTERSON (2001): On core jakobids and excavate taxa: the ultrastructure of *Jakoba incarcerata*. — J. Eukaryot. Microbiol. **48** (4): 480-492.

SIMPSON A.G., ROGER A.J., SILBERMAN J.D., LEIPE D.D., EDGCOMB V.P., JERMIIN L.S., PATTERSON D.J., & M.L. SOGIN (2002): Evolutionary history of "early-diverging" eukaryotes: the excavate taxon *Carpediemonas* is a close relative of *Giardia*. — Mol. Biol. Evol. **19** (10): 1782-1791.

SITTE P. (1991): Die Zelle in der Evolution des Lebens. — Biologie in unserer Zeit 21 (2): 85-92.

SMITH M.W., FENG, D.F. & R.F. DOOLITTLE (1992): Evolution by acquisition: the case for horizontal gene transfers. — Trends Biochem. Sci. **17** (12): 489-493.

STECHMANN A. & T. CAVALIER-SMITH (2002): Rooting the eukaryote tree by using a derived gene fusion. — Science **297** (5578): 89-91.

STECHMANN A. & T. CAVALIER-SMITH (2003): The root of the eukaryote tree pinpointed. — Curr. Biol. **13** (17): R665-R666.

STEENKAMP E.T., WRIGHT J. & S.L. BALDAUF (2006): The protistan origins of animals and fungi. — Mol. Biol. Evol. **23** (1): 93-106.

TOVAR J., LEÓN-AVILA G., SÁNCHEZ L.B., SUTAK R., TACHEZY J., VAN DER GIEZEN M., HERNÁNDEZ M., MÜLLER M. & J.M. LUCOCQ (2003): Mitochondrial remnant organelles of *Giardia* function in iron-sulphur protein maturation. — Nature **426** (6963): 172-176.

TURNER S., PRYER K.M., MIAO V.P. & J.D. PALMER (1999): Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis. — J. Eukaryot. Microbiol. **46** (4): 327-338.

WOESE C. (1998): The universal ancestor. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **95** (12): 6854-6959.

WOESE C. (2002): On the evolution of cells. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **99** (13): 8742-8747.

WYLEZICH C., MEISTERFELD R., MEISTERFELD S. & M. SCHLEGEL (2002): Phylogenetic analyses of small subunit ribosomal RNA coding regions reveal a monophyletic lineage of euglyphid testate amoebae (order Euglyphida). — J. Eukaryot. Microbiol. **49** (2):108-118.

YOON H.S., HACKETT J.D., PINTO G. & D. BHATTACHARYA (2002): The single, ancient origin of chromist plastids. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA **99** (24): 15507-15512.

YOON H.S., HACKETT J.D., CINIGLIA C., PINTO G. & D. BHATTACHARYA (2004): A molecular timeline for the origin of photosynthetic eukaryotes. — Mol. Biol. Evol. **21** (5): 809-818.

Anschrift der Verfasser:

Univ.-Prof. Dr. Martin SCHLEGEL
Stephanie L. SCHMIDT
Molekulare Evolution und Systematik der Tiere
Univeristät Leipzig
Talstraße 3
04103 Leipzig
Germany
E-Mail: schlegel@rz.uni-leipzig.de